
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Détermination de la teneur en
triacylglycérols polymérisés par
chromatographie liquide d'exclusion à
haute performance (CLHP d'exclusion)**

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of polymerized
triacylglycerols by high-performance size-exclusion chromatography
(HPSEC)*
(standards.iteh.ai)

ISO 16931:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6de3e/iso-16931-2009>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16931:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6de3e/iso-16931-2009>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2009

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 16931 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 16931:2001) qui a fait l'objet d'une révision technique.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6de3e/iso-16931-2009>

iTeh STANDARD PREVIEW **(standards.iteh.ai)**

ISO 16931:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6de3e/iso-16931-2009>

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en triacylglycérols polymérisés par chromatographie liquide d'exclusion à haute performance (CLHP d'exclusion)

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode utilisant la chromatographie liquide d'exclusion à haute performance (CLHP d'exclusion) pour la détermination de la teneur en triacylglycérols polymérisés (PTAG), en fraction massique, dans les corps gras contenant au moins 3 % (à partir des aires de pics) de ces polymères. Les PTAG (à proprement parler les triacylglycérols dimériques et oligomériques) se forment pendant le chauffage des corps gras; par conséquent, cette méthode sert à évaluer la détérioration thermique des corps gras ayant été utilisés en friture.

Cette méthode est applicable aux graisses de friture et aux corps gras ayant été traités thermiquement, à condition que la teneur en PTAG soit au moins égale à 3 %. Elle peut également être appliquée à la détermination des polymères dans les graisses contenues dans les aliments pour animaux. Dans ce cas, la méthode d'extraction utilisée peut avoir une influence sur le résultat.

NOTE Pour plus d'informations, voir l'ISO 6492^[4].

2 Références normatives

ISO 16931:2009

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 661, *Corps gras d'origines animale et végétale — Préparation de l'échantillon pour essai*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

triacylglycérols polymérisés PTAG

constituants des corps gras chauffés qui sont déterminés par CLHP d'exclusion dans les conditions spécifiées dans la présente Norme internationale

NOTE La teneur en PTAG est exprimée sous forme de fraction massique en pourcentage, en grammes pour 100 g, de tous les pics de triacylglycérols polymérisés, mono-, di- et triacylglycérols (PTAG, MAG, DAG et TAG) élués.

4 Principe

L'échantillon est mélangé de façon homogène avec du tétrahydrofurane (THF) et les PTAG sont séparées par chromatographie de perméation de gel en fonction de la taille des molécules. Les composés sont détectés au moyen d'un détecteur d'indice de réfraction.

NOTE Pour une meilleure résolution, deux colonnes en série (2 × 300 mm) sont utilisées.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

AVERTISSEMENT — L'attention est attirée sur les réglementations qui spécifient la manipulation des substances dangereuses. Les mesures de sécurité sur les plans technique, organisationnel et personnel doivent être suivies.

5.1 Tétrahydrofurane (THF), pour CLHP, éventuellement stabilisé avec du butylhydroxytoluène (BHT), dégazé, ne contenant pas d'eau.

S'assurer que le THF utilisé comme diluant pour l'échantillon a la même teneur en eau que l'éluant, sinon des pics négatifs peuvent être observés.

5.2 Toluène, pour CLHP.

5.3 Huile d'olive extra vierge, comme étalon de référence: ajouter 100 mg à 300 mg d'huile dans 10 ml de THF et homogénéiser le mélange.

NOTE L'huile d'olive extra vierge ne contient pas de PTAG et peut être utilisée pour déterminer le temps de rétention des triacylglycérols monomériques.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Réservoir de solvant, de 500 ml à 1 000 ml de capacité, doté d'un filtre plongeur dans une phase mobile en polytétrafluoroéthylène.

6.2 Pompe CLHP, sans pulsation, ayant un débit volumique compris entre 0,5 ml/min et 1,5 ml/min.

6.3 Vanne d'injection, avec une boucle de 20 µl et une seringue appropriée d'un volume compris entre 50 µl et 100 µl, ou **injecteur automatique** approprié.

6.4 Colonnes en acier inoxydable, 2 × 300 mm de longueur, de 7,5 mm à 7,8 mm de diamètre intérieur, garnies de microparticules sphériques de diamètre 5 µm, de gel de copolymère de divinylbenzène-styrène; d'ouverture de pores de 10 nm ou 50 nm¹⁾.

NOTE Les chromatogrammes de l'Annexe A montrent la résolution requise avec deux colonnes.

L'utilisation d'une colonne de garde est recommandée. Il convient que l'efficacité de la colonne, exprimée en nombre de plateaux théoriques, *n*, pour les triacylglycérols monomériques, soit d'au moins 6 000.

Maintenir la température de la colonne entre 30 °C et 35 °C, au moyen d'un dispositif de contrôle.

Si nécessaire, la colonne peut être entreposée dans du toluène (5.2), mais l'expérience montre qu'il est préférable de laisser le système fonctionner avec du THF.

6.5 Détecteur d'indice de réfraction, à température contrôlée.

La température idéale pour le détecteur se situe juste au-dessus de la température de la colonne (30 °C à 35 °C).

1) 1 nm = 10 Å.

6.6 Système d'acquisition et de traitement de données pour chromatographie, permettant d'afficher et de quantifier avec exactitude l'aire des pics.

6.7 Seringues à usage unique, de capacité 1 ml.

6.8 Filtres en nylon, d'ouverture de pores de $0,45 \mu\text{m}^2$.

6.9 Seringue pour CLHP, de capacité comprise entre 50 μl et 100 μl .

7 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, n'ayant pas été endommagé ou modifié pendant le transport ou l'entreposage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 5555^[1].

8 Préparation de l'échantillon pour essai

L'échantillon pour essai doit être préparé conformément à l'ISO 661.

9 Mode opératoire

9.1 Mise en service de l'appareillage CLHP

Il est conseillé de suivre scrupuleusement les recommandations du fabricant. Mettre sous tension le système et pomper le THF à un débit volumique compris entre 0,5 ml/min et 1 ml/min pour purger tout le système jusqu'à la vanne d'injection. Raccorder la colonne à la vanne d'injection et la laver avec environ 30 ml de THF. Raccorder la colonne à la cellule échantillon du détecteur. Remplir la cellule de référence de THF. Régler l'écoulement de la phase mobile entre 0,5 ml/min et 1,0 ml/min. Attendre jusqu'à l'obtention d'une stabilisation convenable du système (absence de déviation notable de la ligne de base).

Si la colonne recommandée dans le présent paragraphe est utilisée, une stabilisation acceptable du système est normalement obtenue en 15 min environ. Avec d'autres garnissages de colonne, la stabilisation du système peut s'avérer plus difficile. À titre d'exemple, il convient de procéder par étapes au changement de phase mobile, du toluène au THF, avec différents mélanges, en augmentant à chaque fois la proportion de THF de 25 %. Une stabilisation acceptable est normalement obtenue au bout de 12 h environ.

2) Un filtre à seringue Nalgene 4 mm est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

Les conditions suivantes sont considérées comme appropriées:

Colonne: PLgel³⁾ 10 nm, 2 × 300 mm × 7,6 mm, 5 µm;
 Éluant: THF;
 Débit: 0,8 ml/min;
 Four: 35 °C;
 Détecteur: Réfractomètre réglé à 35 °C;
 Volume d'injection: 20 µl.

9.2 Préparation de la prise d'essai et analyse

Ajouter environ 100 mg à 300 mg de l'échantillon pour essai (Article 8) à 10 ml de THF et homogénéiser. Si nécessaire, filtrer au moyen d'un filtre en nylon (6.8). À l'aide de la seringue pour CLHP (6.9), injecter 20 µl à 40 µl de cette solution.

10 Expression des résultats

10.1 Analyse qualitative

Le tracé chromatographique de la détermination présente un pic principal correspondant aux triacylglycérols monomériques (masse moléculaire d'environ 900), et un ou plusieurs pics de plus petite taille avec des temps de rétention plus courts, correspondant aux PTAG (dimères et oligomères supérieurs).

Dans des conditions appropriées, les triacylglycérols (TAG) et les triacylglycérols polymérisés (PTAG) peuvent être séparés avec une bonne résolution (Figures A.1 et A.2), cela même en présence de faibles quantités de PTAG.

Cependant, dans certains cas (qui semblent être liés au phénomène complexe de la dégradation), le tracé des pics qui précèdent les pics de triacylglycérol peut être moins bien résolu, avec les difficultés qui s'ensuivent pour les calculs (Figure A.2).

10.2 Analyse quantitative

Le calcul est réalisé selon la méthode de normalisation interne en prenant pour hypothèse que tous les constituants de l'échantillon sont élués et qu'ils ont le même coefficient de réponse. Il est important d'obtenir une ligne de base rectiligne.

La fraction massique de PTAG, w_{PTAG} , en grammes pour 100 g, est calculée à l'aide de l'équation suivante:

$$w_{\text{PTAG}} = \frac{\sum A_{\text{PTAG}} \times 100}{\sum A_{\text{tot}}}$$

où

A_{PTAG} est la somme des aires de pic de tous les PTAG;

A_{tot} est la somme des aires de pic de tous les acylglycérols (PTAG, TAG, DAG et MAG).

Exprimer les résultats à un chiffre après la virgule.

3) PLgel est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

11 Fidélité

11.1 Essais interlaboratoires

Les détails des essais interlaboratoires relatifs à la fidélité de la méthode sont récapitulés dans l'Annexe B. Les valeurs fournies par ces essais interlaboratoires peuvent ne pas être applicables à des plages de concentration et à des matrices autres que celles indiquées.

11.2 Répétabilité

Lorsque les valeurs de deux résultats d'essai indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à essai dans le même laboratoire, par le même opérateur utilisant le même appareillage, dans un court intervalle de temps, se situent dans la plage des valeurs moyennes indiquées dans le Tableau B.1, la différence absolue entre les deux résultats d'essai obtenus ne doit excéder que dans 5 % des cas au plus la limite de répétabilité, r , généralement déduite par interpolation linéaire des valeurs indiquées dans le Tableau B.1.

11.3 Reproductibilité

Lorsque les valeurs de deux résultats d'essai indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à essai dans des laboratoires différents, par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents, se situent dans la plage des valeurs indiquées dans le Tableau B.1, la différence absolue entre les deux résultats d'essais ne doit excéder que dans 5 % des cas au plus la limite de reproductibilité, R , généralement déduite par interpolation linéaire des valeurs indiquées dans le Tableau B.1.

12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir au moins les informations suivantes:

- a) toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- b) la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;
- c) la méthode d'essai utilisée, avec référence à la présente Norme internationale;
- d) tous les détails opératoires non spécifiés dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails de tous les incidents susceptibles d'avoir influé sur le(s) résultat(s) d'essai;
- e) le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s) ou, si la répétabilité a été contrôlée, le résultat final obtenu.